# 两种泥鳅染色体组型的比较研究

李 康 李渝成 周 曦

(武汉大学生物系)

#### 摘 要

本文是泥鳅(Misgurnus anguillicaudatus)和大鳞付泥鳅(Paramisgurnus dabryanus) 染色体组型的比较研究结果。泥鳅的二倍体染色体数为100,臂数 (NF) 128; 大鳞付泥鳅的二倍体染色体数为48 (49),臂数64(65)。因此,初步推断我们所研究的泥鳅是一种四倍体类型的鱼。它的核型曾有一个2n(50)→4n(100)的自然加倍演变; 其较原始类型的核型可能是2n=50(NF=64)。大鳞付泥鳅与泥鳅属较原始类型鱼的进化分歧, 在核型演化关系上可能主要表现为由两对端者丝点染色体发生着丝点融合(罗伯逊易位),成为一对具有明显双臂的染色体。我们还发现某些大鳞付泥鳅中可能存在B染色体。

随着鱼类细胞短期培养制备染色体标本技术的发展(吴政安等,1980; 周暾,1980; 小岛吉雄,1978),有关鱼类染色体组型的报道迅速增加,分析更加精细。据Bacunbeg (1980)统计,已有染色体研究报道的达1,076种鱼(包括亚种),其中鳅科鱼类有15种(包括亚种),分别涉及8个属。这里,我们对湖北常见的两种泥鳅——泥鳅(Misgurnus anguillicaudatus) 和大鳞付泥鳅(Paramisgurnus dabryanus)的染色体组型做一分析比较,以探付泥鳅和大鳞付泥鳅的核型演化及其与物种进化分歧的关系。泥鳅属(Misgurnus)鱼类分布于我国境内的共有三个种,北方泥鳅(M. bipartitus)、黑龙江泥鳅(M. mohoity)和泥鳅。北方泥鳅主要分布于黄河以北地区,黑龙江泥鳅仅分布于黑龙江水系,泥鳅在全国各地均有分布。付泥鳅属(Paramisgurnus)仅大鳞付泥鳅一种,主要分布于我国长江流域以及浙江省和台湾省(陈景屋,1979)。Hitotsumachi等(1969)和Raicu及Taisescu(1972)曾分别报道了日本的泥鳅(Misgurnus anguillicaudatus)和欧洲纵带泥鳅(Misgurnus fossilis)的染色体组型(Hitotsumachi等,1969,Raicu等,1972)。关于泥鳅的染色体组型,我们与Hitotsumachi等(1969)的分析结果有所不同。

本工作是在余先党教授指导下进行的。国家水产总局长江水产研究所田见龙河志协助鉴定标本,谨兼谢常。 本文1981年12月16日收到,1982年4月19日收到修改稿。

### 材料与方法

材料分别在春、秋季节购于沙市长江水产研究所附近鱼市和武昌大东门市场。

采用 Yamamoto 和Ojima (1973) 所建立的肾组织—PHA技术进行细胞培养,对培养基稍加改动 (80%1640培养液+20%小牛血清+15mMHEPES)。0.037M KCI低渗液在室温下处理30±3分钟,空气干燥法制片,Giemsa染色。

每一种鱼至少计数100个完整的分 裂 相,确定其二倍体染色体数 (2n)。用投影放大描绘的方法 (周暾等,1980) 测量分析10个以上完整的中期分裂相,并采用目前多数人采纳的分组标准 (Levan, 1964),臂比1.00~1.70划为皿组,1.71~3.00为sm组,3.01~7.00为 st 组,7.01~∞为 t 组,确定每一种鱼的染色体组型特征。

### 结 果

对泥鳅和大鳞付泥鳅中期分裂相计数的结果,泥鳅的二倍体染色体数是100, 而 大鳞付泥鳅则为48, 详见表 1。

表]		<b>泥鳅和大鳞</b> 付	泥鳅和大鳞付泥鳅的染色体计数结果					
种 名		检查染色体数目的鱼尾数	9	o*	所计數分裂相的染色体众數	众数占%		
M. anguil	licaudatus	. 13	9	4	100	67%		
P. dabrya	nus	13(+3*)	11(+8*)	2	48 '	85%		

\* 有三尾大韓付泥鳅取自沙市,计數结果不同,见表 2。

上述计数的分裂相中,非众数部分的染色体数目绝大部分偏向小于众数的一侧,即 泥鳅的非众数部分绝大多数都少于100,大 鳞 付泥鳅的非众数部分绝大多数都少于48。 非众数部分是由于处理细胞、制片和计数误差所造成的,它的不平衡分布反映出,在处理细胞和制片时,染色体丢失的情况比混杂的情况更常发生。在我们所做的取材于沙市的三尾大鳞付泥鳅中,二倍体染色体数与其他不同,表 2 将其计数结果与其他大鳞付泥鳅的计数结果作一比较。

表 2	两种英型	<b>两种英型大驯行派</b> 數梁色体计数结果的比较							
计数结果 采鱼地点及尾数	- 現色体教目	<45	46	47	· 48	49	50	₽ 计	<u> </u>
武昌, 13	鬼	Б	4	6	85	_	_	100	3
沙市, 3	足	1	3	8	47	43	1	103	

从上述结果不难看出,取自沙市的三尾大鳞付泥鳅染色体数目与其他大鳞付泥鳅的有一明显的差异,它们有两个几乎相等的众数——48和49。这种差异绝不可能是由于处

理细胞和制片技术所造成,因此它们的二倍体染色体数应是2n=48,49。

表 3 列出了泥鳅和大鳞付泥鳅的染色体组型分析结果,对于大鳞付泥鳅,将染色体数目2n=48和2n=48,49两种类型鱼分别进行组型分析,后 者 又将染色体数目48和49的分裂相分别进行测量和分析。

表 3

1

#### 泥鳅和大鱗付泥鳅的染色体组型分析结果

种	名	分析的分裂相数目	染色体组型公式(m+sm+t)
M. anguillicau	datus	14 .	16 m + 12sm + 72 t
P. dabryanus	(2n = 48)	12	12 m + 4sm + 32 t
P. dabryanus (2n = 48,49)		8 9	12m + 4sm + 32 t
		9 11	12  m + 4  sm + 33  t

泥鳅的100条染色体包括 8 对中部着丝点染色体(m), 6 对亚中着丝点染色体(im), 36对端着丝点染色体(t)。 m和sm组染色体的相对长度从16.5到8.0星连续变化, t组染色体的相对长度从13.7到6.9星连续变化(见图版 3)。大鳞付泥鳅 2n=48和2n=48,49的核型基本上一致,都具有 6 对中部着丝点染色体, 2 对亚中着丝点染色体。 m组第一对染色体相对长度为35.9,较该组其他染色体有显著的长度差异, 其他 5 对染色体相对长度从27.4~15.6星较连续变化。 sm组的两对染色体, 一对大一对小, 长度差异十分显著。大鳞付泥鳅两种核型的差异仅在于端着丝点染色体的数目,具有48条染色体的核型有32条端着丝点染色体,具有49条染色体的核型有33条端着丝点染色体。 染色体配对分析证明后者比前者多一条最小的端着丝点染色体(见图版 1、2)泥鳅和大鳞付泥鳅都有一对染色体带有随体,在泥鳅为sm组的第五对染色体,而大鳞付泥鳅则为m组的第四对染色体。两种泥鳅均未发现与性别有关的异形染色体。

## 讨 论

級科鱼类已有核型报道的种分别属于 8 个属15个种 (亚种) (Васильев, 1980<sub>2</sub>) 其中染色体数目(2n)为50的类型分别属于 6 个属 9 个种(亚种)(见表 4), Hitotsumachi。 Sasaki和Ojima (1969) 曾提出, 在銀科鱼类中, 基本的二倍染色体数是50。

关于泥鳅 (M. anguillicaudatus) 的核型,Hitotsumachi等 (1969) 报道的染色体数目 2n > 50, 其中,具中部着丝点的染色体和亚中着丝点染色体 (m + sm)是 7 对,端着丝点染色体是 18 对,精数 (NF) 是 64。我们所分析的泥鳅与此不同,染色体数目 (2n) 和臂数 (NF) 都正好比前者多一倍,具有明显双臂的染色体 (m + sm, 14 对) 和端着丝点染色体 (t, 36 对) 正好是前者染色体分组特征的二倍数。值得注意的是,本文所分析的泥鳅染色体组型,属于m组的染色体是 16 条,属于sm组的染色体是 12 条,属于 10 组的染色体是 12 条,属于 10 组的染色体是 10 的核型分析,以及对该种泥鳅两种不同核型的比较,我们认为,泥鳅的核型曾发生过 10 10 10 10 的自

然加倍过程。因此,本文所报道的分布于潮北的泥鳅应是一种四倍体类型,其较原始类型的核型可能是2n=50(NF,64)。

表 4

#### 鳅科鱼类染色体数目及臂数的分布

—————————————————————————————————————							
亚科	种	2n	NF*	作者			
Cobitinae(花錄亚科)	Acantho psis chairorhynchus(B.)	50		Ferri. et al., 1977			
	Cobitis biwae (I, et s.)	96	154	Hitotsumachi et al, 1969			
	何 上	48		Kobayasi, 1976			
	闻 上	96	-	Kobayasi, 1978			
	同 上	48	(90)	Uenne et al., 1976			
	闰 上	96	(182)	Uenne et al., 1976			
	Cobiti delicata(N.)	50	68	Hitotsumachi et al., 1969			
	C. taenia striata(O. et I.)	50	66	Uenno et al., 1976			
	同 上	98	140	Uenne et al., 1976			
	C. taenia taenia(L.)	50	66	Uenne et al., 1976			
	瓦 上	86	(150)	Uenne et al., 1976			
	間 上	94	(152)	Uenne et al., 1976			
	<b>同</b> 上	50	68	Cataudella et al., 1977			
	简 上·	50	(88)	Sofradžija et al., 1978			
	间 上	75	(132)	Sofradžija et al., 1978			
	Misgurnus anguillicaudatus (C.)	50	64	Hitotsumachi et al., 1989			
	M. fossilis (L.)	100	(136)	Raicu et al., 1972			
Boticnae(沙鳅亚科)	Botia macracantus (B.)	98	-	Muramoto et al., 1968			
	B. modesta (B.)	100		Ferris et al., 1977			
emachilinae(条銀亚科)	Lefua echigonia (I. et R.)	50	_	Nogusa, 1960			
	L. nikkonis (J. et F.)	50	62	Hitotsumachi et al., 1969			
	Barbatula oreas ( $J_*$ et $F_*$ )	48	-	Makino, 1941, Nogusa, 196			
	B, tont (D.)	50	66	Hitotsumachi et al., 1969			

<sup>\*</sup> 根据Васпльев资料。青敷打括号者可能统计时将 st 染色体计为双臂。

多倍体化现象在高等脊椎动物中虽然极其少见,但是在鱼类这样一些较低等脊椎动物中却并非少见。通常的鲤、鲫鱼以及胭脂鱼科的鱼实际上都是一些老四倍体类型,花鲱科和鲟鳇鱼也都有多倍体化现象出现(李树深,1980)。近年来,一些学者对鳅科鱼类的多倍体问题进行了研究。Uennc和Ojima(1976)报道了花鳅属的Cobitis biwae核型有一个20(48)→40(96)的变化。Sofradžija等(1978)也报道了该属中C。taenia taenia

(ji

的多倍体化现象。Ferris和White(1977)提出了沙鳅属Botia modesta的四倍体。Raicu和 Taisescu(1972)分析了分布于欧洲的唯一泥鳅属的纵带泥鳅 (M. fossilis) 的染色体组型,其染色体数目 (2n) 为100, 臂数为136, 作者认为这是一种四倍体类型的鱼。可见,多倍体现象在鳅科鱼类中是一种较普遍的现象。Uyeno(1972) 和李树深 (1980) 都提出这样一种看法。在脊椎动物中,多倍体类型通常见于雌雄性别间没有分化核型的或一些能孤雌生殖、雌核发育的动物,而在具有性染色体的脊椎动物中,多倍体极少见。鱼类迄今已确定具有性染色体的种类为数不多,约40~50种 (Кирличников, 1979) ,占已有染色体报道种类的不足5%。泥鳅属已报道核型的泥鳅和纵带泥鳅均未发现性染色体(Hitotsumachi等, 1969, Raicu,等1972)。本文所报道 泥鳅 (2n=100) 和大鳞付泥鳅亦未发现有性染色体。所有这些都支持泥鳅 (2n=100) 是一种四倍体类型的鱼。这一问题的更有力的证据将有待于对几种泥鳅进行DNA含量的测定与比较,相互杂交及其他细胞生物学方面的研究。

根据大量付泥鳅的核型分析结果。下面对大量付泥鳅和泥鳅的进化分歧与核型变化 关系做一初步探讨。大鳞付泥鳅原订种名为大鳞泥鳅 (Misgurnus mizolepis), 与泥 鮲同鳳子泥鳅属(中国科学院水生生物研究所, 1975)。最近,据中国科学院水生生物 研究所陈景星(1979)研究结果,原订的大鳞泥鳅较泥鳅属鱼类在形态解剖上已有明显 的进化差异,其基枕骨的咽突已在背大主动脉下愈合,下咽骨发达,变短,中央部分变 宽、明货基扁白状。因此将其划归付泥鳅属。泥鳅属与付泥鳅属为进化上亲缘关系十分 接近的两个属,后者占有更高的分类地位。从核型分析来看,大鳞付泥鳅的二倍体染色 体数是48(12m+4sm+32t), 臂数为64。而泥鳅属中目前所知具有较原始核型的类型是 日本的泥鳅 (2n=50), 它的染色体数目 (2n) 比大鳞付泥鳅多 2。但是臂数两者却相 等。它的分组结果, t 组染色体比大鳞付泥鳅多2对, 具 有 明 显 双 臂 的 m 和 sm 组染 色体却少 1 对。由此,我们似乎可以这样推测,大鳞付泥鳅与原始泥鳅属鱼的进化分歧 在核型上主要表现为一次罗伯逊易位(Robertsonian translocation),即两对端着丝点 染色体由着丝点融合形成一对具明显双臂的中部或亚中着丝点染色体。作为一种染色体 变异的方式,罗伯逊易位在鱼类核型演化中十分常见(李树深,1981),据此,李树深 认为。在特定的分类阶元中,染色体数目多的(除多倍体类型外),具有较多端着丝点 染色体的,应是较原始的类型,而染色体数目少的,具有较多的中部或亚中着丝点染色 体的,应是特化的类型。这与本文的结果是一致的。关于大鳞付泥鳅与泥鳅属鱼的核型 上的同源性,尚须进一步做染色体分带的研究。

我们所研究的大鳞付泥鳅中,有三尾取自抄市的雌鳅,染色体数目(2n)为48,49。核型分析证明差异仅在于2n=49的分裂相中多一条最小的端着丝点染色体。我们所研究的其他11尾雌性大鳞付泥鳅2n皆为48。显然这条多出的端着丝点染色体不是性染色体。从形态上看,这两种大鳞付泥鳅没有明显的可区分的差异。因此,这一多出的端着丝点染色体可能属于一种超数染色体——B染色体。关于鱼类中的超数染色体近年已有报道。日本学者小岛吉雄(1978)根据鲤鱼[2n=100(+1,2)]×鲫鱼杂交,后代成活可育,认为这种多余染色体是B染色体。由于一般认为B染色体主要为异染色质(Brown,1974) Rees,1977),因此这一问题的解决,进一步进行c带研究是必要的。

#### 参考文献

中国科学院水生生物研究所 1967 长红鱼类。科学出版社。157。

吴政安, 杨慧一 1980 鱼类细胞遗传学的研究。遗传学报, 7(4):370--374。

李柯深 1980 脊椎动物的多倍体。动物学杂志, 2:52-54。

李树深 1981 鱼类细胞分类学。生物科学动态, 2:8-15。

陈景屋 1979 中国花纸亚科鱼类系统分类的研究。鱼类学论文集。科学出版社。1:27-30。

周 曦 1980 鳙鱼的染色体组型。淡水油业,4:3-7。

周曦, 被钩秀, 杨永铨 1980 青鱼的染色体塑型。武汉大学学报(自然科学版), 4:112-116

小岛市雄 1978 鱼类杂种の细胞遺传学。遺传, 32(7):11-21。

Brown, W. V. and E. M. Bertke 1974 Textbook of Cytology. 2nd. Ed. The C. V. Mosby Company, 377-383

Ferris, S. D. and G. S. White 1977 Duplicate gene expression in diploid and tetraploid loaches (Cypriniformes, Cobitidae). Biochem. Genet., 15(11-12):1097-1112

Hitotsumachi, S., M. Sasaki and Y. Ojima 1969 A comparative karyotype study in several species of Japanese loaches (Pisces, Cobitidae) Japan J. Genet., 44(3):157-161

Raicu, P. and E. Taiseseu 1972 Misguraus fossilis, a tetraploid fish species J. Heredity, 83(1):92-94 Rees, H. and R. N. Jones 1977 Chromosome Genetics. Edward Arnold 79-81

Sofradžija, A. and L. Berrberaric 1978 Diploid-tetraploid sexual dimorphism in Cobitis teania (Pisces).

Genetica, 10(3)

\*Uenne, and Y. Ojima 1976 Diploid-tetraploid complexes in the genus Cobitis (Cobitidae) Proc. Japan Acad., 58(18)

Uyeno, T. and G. R. Smith 1972 Tetraploid origin of the karyotype of Catostomid fishes. Science, 175(4022):644-645

Yamamoto, K. and Y. Ojima 1973 A PHA—culture method for cells from the renal tissue of teleosts. Japan J. Genet., 48(3):235—238

Васильев, В. л. 1980 Хромосомиме числа рыбообразны и рыб. Волросы Ихтиолотии, 20(3):387—422 Кирличников, В. С. 1979 Генетинеские Основы Селовции. «Наука» Лениградское Отделение 615

<sup>\*</sup> 未直接查到原文。

# A COMPARATIVE STUDY OF THE KARYOTYPES IN TWO SPECIES OF MUD LOACHES

Li Kang Li Yucheng Zhou Dun

(Department of Biology, Wuhan University)

Misgurnus anguillicaudatus and Paramisgurnus dabryanus are two common species of mud loaches in Hubei Province. A comparative study of the karyotypes in these two species was carried out with particular considerations on their taxonomy and evolution. The Chromosome preparations for this study were made with short-period PHA-cultured kidney cells in vitro by the air-drying method and Giemsa staining.

Misgurnus anguilticaudatas has a diploid chromosome number of 100 with a fundamental arm number (NF) amounting to 128. Ilts karyotype comprises 8 pairs of metacentrics, 6 pairs of submetacentrics and 36 pairs of telocentrics. Paramisgurnus dabryonus has 2n = 48 with NF = 64, which consists of 6 pairs of metacentrics, 2 pairs of submetacentrics and 16 pairs of telocentrics. But cells containing 2n of 49 with NF of 65 were also found in some individuals collected from sha shi market. No sex chromosome was found in these two species.

Basing upon the above mentioned results of karyotype analysis, one may well consider Misgurnus anguillicaudatus as a tetraploid fish which has been formed through a spontaneous polyploidization of chromosome complements from 2n(=50) to 4n(=100). Thus, the 2n of the primitive species should be 50. In fact, the 2n of the Japanese mud loach Misgurnus anguillicaudatas was reported to be 50, which has not been found in China. Regarding the karyotypical differences between Paramisgurnus dabryonus (2n = 48(49)) and the supposedly primitive species (2n = 50), it might be due to some structural rearrangements such as Robertsonian translocations among chromosomes of the primitive form, which had occurred in the course of karyotypical evolution, resulted in the reduction in chromosome number. A smallest supernumerary chromosome found in Paramisgurnus dabryanus is probably a chromosome. Further studies, however, are needed to substantiate all these propositions.

# 异色瓢虫重名变种在云南的发现 DISCOVERY OF LEIS AXYRIDIS VAR. AXYRIDIS PALLAS IN YUNNAN PROVINCE

异色觀虫Leis axyridis Pallas, 展鞘短目 (Coleoptera) 多食亚目 (Polyphaga) 扇甲总科 (Cucujoidea) 鳳虫科 (Coccinellidae) 异色真虫属 (Leis或Harmonia), 是蚜虫的主要天故之一; 分布于苏联阿尔泰山脉以东的广大地区,以及我国、朝鲜、日本等地,故又称亚洲狐虫。

异色服虫的鞘翅和前胸背板上的色斑变异很大,是一个典型的多型种。Korshefsky (1932) 将异色飘虫分为105个变种或变型。茂镇城等 (1980) 了解到鞘翅色斑的遗传机制是由一系列复等位基因所制约,并表现出一种特异的策恢 星性 (mosaic dominance) 现象。一些变种或变型是镶嵌杂合体,不能稳定地遗传。

异色氯虫变种或变型有下列五种基本形式:

- 一、鞘翅基色橙黄至桔红,具黑色斑点。
- 1.异色囊虫十九素变种(Leis axyridis var. novemdecemsignata Faldermann)
- 2.异色製虫二壳变型(Leis axyridis ab. bimaculata Hemmelmann)
- 二、鞘翅基色为黑色。具浅色大斑。
- 3.异色氯虫显明变种(Leis axyridis var. spectabilis Faldermann)
- 4.异色重虫显现变型(Leis axyridis ab, conspicua Faldermann)
- 5.异色基虫重名变种(Leis axyridis ver. axyridis Pallas)

置名变种的鞘翅黑色,具六个较大的黄色或黄红色圆或近圆形斑。据 Dobzhansky (1953), 蓝名变 种 的 地 理分 布,以西伯利亚中部偏西的地区为中心向东伸展,但在种群中的比例逐渐减少。 例如,在阿尔泰山4,013个异色蚕虫标本中,重名变种占99.95%,向东分布到西外贝加尔便降低到49.2%,而到伯力和海参崴,分别降到0.2%和0.8%。除西伯利亚以外,重名变种还见于日本,但朝鲜则未发现。

刘崇乐极需我国北部的山东(崂山)、河北、辽宁、南部的江西、孤建、广东和西部四川所采的标本,作了异色 戛虫重名变种在我国的地理分布图。并指出: 重名变种在我国呈现出的间断分布,不只联系到地理隔离,还有可能 幸步到更多的生物学问题,如这个变种的遗传学特性等。 他最后提出: "在四川的周围,等待系统的现象。如能在 这些空白地带进行采集,则可能提供更多的事实来说明异色颤虫重名变种在地理分布上所表现的问题实质。"他 (1965) 还认为在新疆发现的重名变种是由西北利亚分布中心扩散的结果。

我们在整理云南省森林昆虫标本中发现: 在全省普遍分布的106头异色真虫标本中,有四头属重名变种,其采集 地点如下:

 			<del></del>	
采 集 地	梅 按	采集日期	采 集 与	
 贵山林业站	1,540米	1979, 6月19日	贡山 131 号	
福武烈士墓	1,540米	1979, 6月19日	福武 139 号	
碧江亚谷苗圖	1,165米	1979, 6月14日	灣江 162 号	
保山天井橋	2,460米	1979, 6月1日	保山 734 号	

从上麦看出,异色真虫重名变种在云南的地理分布,是在东经99°左右,北纬25°至27°之间,沿横断山脉的怒江河谷自北南下。

另外,在作者之一于1980年9月至1981年1月,在昆明安宁温泉地区(海拔1,848米,东经102°29′,北纬24°56′) 所收集的1,228头异色酿虫中,并无一头重名变种。

在云南发现异色夏虫重名变种这一事实表明。 我国的横断山脉是高纬度大脑性地带的 古北区昆虫与低纬度的东洋区昆虫交汇地带。故形成这一地区丰富多彩的昆虫区案。

曹诚一 肖宁年 (云南林学院) (云南省林里厅)

本文1982年 3 月29日收到。

## 李康等: 两种泥鳅染色体组型的比较研究

Li Kang et al.: A Comparative Study of the Karyotypes in Two Species of Mud Loaches

# Y NY KE SX ME EN XE

- B M XA 5
- c 10 100 A0 40 40 A0 A0 A0
- 1 1X 14 XX 11 8X 11
- B # 48
- # M & & AL NO OF AC AC AC

5 4 .

## A 36 11 36 38 11 13 36 36

- uuuuuuu.

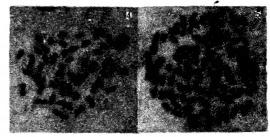


图1.大鳞付泥鳅 (Paramisgurnus dabryanus) 2n=48, 染色体组型

图2.大鳞付泥鳅 2n = 48,49,具有49条染色体的分裂相的染色体组型

图3.泥鳅 (Misgurnus anguillicaudatus) 的染色体组型

图4.5.分别为大鳞付泥鳅 2n = 49, 泥鳅 2n = 100的分裂相箭头示有随体的染色体 A组:中部着丝点染色体; B组:亚中着丝点染色体; C组:全部为端着丝点染色体。

## 叶银英等: 一种最简单的姐妹染色单体区别染色法

Ye Yinying et al. A Simple Technique for the differential Staining of Sister Chromatids.



